

# МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА НЕПРЕРЫВНОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ С НЕЛИНЕЙНОЙ КИНЕТИКОЙ РОСТА

\* Ю.Л. Гордеева, доцент, \* Ю.А. Ивашкин, профессор,  
Л.С. Гордеев, профессор

\*Московский государственный университет прикладной биотехнологии  
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева  
e-mail: l.s.gordeev@yandex.ru

**П**риведены результаты математического моделирования процесса микробиологического синтеза в биореакторе с перемешиванием непрерывного действия с нелинейной кинетикой роста. Получены оценки концентрации субстрата, биомассы и продукта.

The performance of a continuous bioreactor was theoretically analyzed for steady-state operation. The effect of substrate feed concentration and dilution rate was analyzed. Equations for estimation of productivity and of concentrations of the substrate and biomass were obtained.

**Ключевые слова:** моделирование, биореактор, нелинейная скорость роста, ферментация, продуктивность, оптимизация.

**Key words:** modeling, bioreactor, nonlinear growth rate, fermentation, productivity, optimization.

Рассматривается процесс микробиологического синтеза в аппарате непрерывного действия, кинетическая модель которого достаточно широко используется при описании получения различных продуктов [1–7]. Процесс реализуется следующим образом. В аппарат с перемешиванием объемом  $V$  непрерывно поступает субстрат с объемной скоростью  $Q$  и концентрацией субстрата  $S_f$ . В аппарате синтезируется биомасса с концентрацией  $X$  и продукт с концентрацией  $P$ . Из аппарата непрерывно выводится поток с той же объемной скоростью  $Q$  и концентрацией компонентов – субстрата  $S$ , биомассы  $X$  и продукта  $P$ . Для моделирования процесса использованы условия идеального перемешивания.

Система уравнения модели (материального баланса) имеет вид:

$$\begin{cases} -D \cdot X + \mu \cdot X = 0 \\ D \cdot (S_f - S) - \frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot X = 0 \\ -D \cdot P + (\alpha \cdot \mu + \beta) \cdot X = 0, \end{cases} \quad (1)$$

где  $D=Q/V$ , ч<sup>-1</sup>;  $V$  – объем реактора, л;  $Q$  – объемная скорость потока, л/ч;  $\mu$  – удельная скорость роста биомассы, ч<sup>-1</sup>;  $Y_{X/S}$  – стехиометрический коэффициент, г/г;  $X$ ,  $S$ ,  $P$  – концентрации биомассы, субстрата и продукта на выходе из реактора, соответственно, г/л;  $S_f$  – концентрация субстрата в потоке, поступающем в реактор, г/л;  $\alpha$ ,  $\beta$  – константы.

Удельная скорость роста записана в виде:

$$\mu = \mu_m \cdot (1 - P/P_m) \cdot S / (K_m + S + S^2/K_i), \quad (2)$$

где  $\mu_m$  – максимальная удельная скорость роста, ч<sup>-1</sup>;  $P_m$  – константа насыщения продукта, г/л;  $K_i$  – константа ингибирования субстрата, г/л.

Из первого уравнения системы (1) получаем:

$$D = \mu. \quad (3)$$

Соотношение (3) означает, что величины  $D$  и  $\mu$  имеют взаимоограничение, т.е. величина потока  $D$  должна соответствовать удельной скорости роста. Это взаимоограничение будет отмечено ниже.

Учитывая (3) и (2), получим:

$$P = P_m \cdot (1 - D/\mu_m \cdot (K_m + S + S^2/K_i)/S). \quad (4)$$

Из второго уравнения и третьего уравнений системы (1) получаем:

$$X = (S_f - S) \cdot Y_{X/S}, \quad (5)$$

$$-D \cdot P + (\alpha \cdot D + \beta) \cdot X = 0. \quad (6)$$

С учетом (4), (5) и (6) запишем уравнения относительно концентрации субстрата  $S$ :

$$\begin{aligned} D \cdot P_m \cdot (1 - D/\mu_m \cdot (K_m + S + S^2/K_i)/S) = \\ (\alpha \cdot D + \beta) \cdot (S_f - S) \cdot Y_{X/S}. \end{aligned} \quad (7)$$

Решение (7) относительно концентрации субстрата на выходе из реактора  $S$  имеет вид:

$$S = \frac{B}{2 \cdot A} \pm \sqrt{\left(\frac{B}{2 \cdot A}\right)^2 + \frac{C}{A}}, \quad (8)$$

где

$$A = (\alpha \cdot D + \beta) - (K \cdot D^2 \cdot P_m) / (\mu_m \cdot K_i), \quad (9)$$

$$B = (\alpha \cdot D + \beta) \cdot S_f + (K \cdot D^2 \cdot P_m) / \mu_m - K \cdot D \cdot P_m, \quad (10)$$

$$C = K \cdot D^2 \cdot P_m \cdot K_m / \mu_m, \quad (11)$$

$$K = 1/Y_{X/S}.$$

Выбор знака ( $\pm$ ) в выражении (8) определяется условием ограничения для  $S$ :

$$0 \leq S \leq S_f. \quad (12)$$

Знак равенства в (12) относится к предельным случаям.

Таким образом, для  $X$  и  $P$  имеем:

$$X = \left( S_f - \left( \frac{B}{2 \cdot A} \pm \sqrt{\left(\frac{B}{2 \cdot A}\right)^2 + \frac{C}{A}} \right) \right) \cdot Y_{X/S}, \quad (13)$$

$$P = X \cdot (\alpha + \beta/D). \quad (14)$$

Формула расчета продуктивности D·P (производительности по целевому компоненту P) имеет вид:

$$D \cdot P = X \cdot (\alpha \cdot D + \beta). \quad (15)$$

Анализ полученных соотношений показывает следующее. Если в процессе субстрат исчерпывается полностью, т.е.  $S=0$ , удельная скорость роста  $\mu$  обращается в нуль и процесс ферментации не протекает. Далее, если концентрация продукта достигает (или близка) значения  $P_m$ , удельная скорость роста также равна нулю. Это означает, что предельное максимальное значение  $P$  не может превышать  $P_m$ .

Величина протока  $D$ , как отмечалось ранее, ограничена условием (3). Это означает, что максимальное значение  $D$  в процессе должно быть меньше величины, определяющей полное вымывание субстрата из аппарата. Очевидно, что тогда образование продукта не происходит. Математически это означает, что  $P=0$ , и тогда из (2) получаем предельное значение  $D$ :

$$\max D = \frac{\mu_m \cdot S_f}{K_m + S_f + S_f^2/K_i}. \quad (16)$$

Таким образом, в соотношениях (8)-(15):

Таблица 1. Численные значения параметров (базовый вариант).

Параметр	$Y_{X/S}$	$\alpha$	$\beta$	$\mu_m$	$P_m$	$K_m$	$K_i$
Величина	0.4 г/г	2.2 г/г	0.2 ч <sup>-1</sup>	0.48 ч <sup>-1</sup>	50 г/л	1.2 г/л	22 г/л

Рис. 1 иллюстрирует нелинейную зависимость удельной скорости роста  $\mu$  от концентрации субстрата в реакторе при всех значениях концентрации продукта. Кроме того, при определенных концентрациях субстрата эта скорость имеет максимальное значение. Последнее предполагает возможность получения продукта с максимальной скоростью или максимального количества в единицу времени с единицы объема реактора.

Приведем некоторые результаты моделирования процесса, полученные из решения уравнений модели (8)-(17).

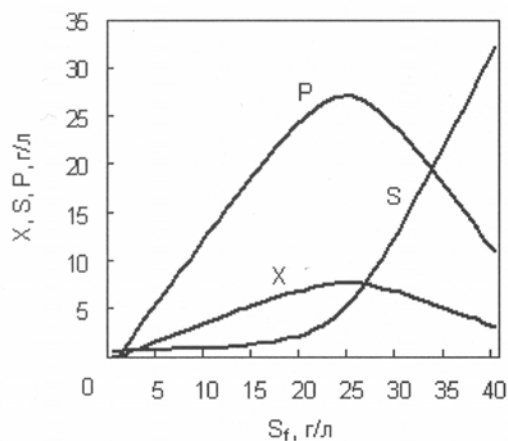


Рис. 2. Зависимость концентраций компонентов на выходе из биореактора от концентрации субстрата в поступающем потоке при  $D=0.15$  ч<sup>-1</sup>.

$$0 < D \leq \max D, \quad (17)$$

где  $\max D$  вычисляется по формуле (16) для любого значения  $S_f$ .

На рис. 1 показана зависимость удельной скорости роста  $\mu$  от концентрации субстрата  $S$  при нескольких значениях  $P$ .

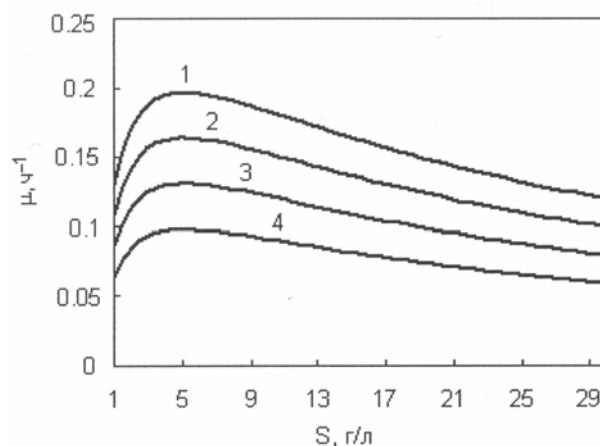


Рис. 1. Зависимость удельной скорости роста  $\mu$  от концентрации субстрата в биореакторе при: 1 –  $P=20$  г/л; 2 –  $P=25$  г/л; 3 –  $P=30$  г/л; 4 –  $P=35$  г/л.

На рис. 2 приведены зависимости концентрации компонентов на выходе из реактора от концентрации субстрата  $S_f$  в поступающем потоке при постоянной скорости протока  $D$ . При моделировании использованы данные табл. 1. Величина скорости протока  $D=0.15$  ч<sup>-1</sup>.

Влияние величины максимальной удельной скорости роста на концентрацию продукта  $P$  показано на рис. 3 [6] при  $D=0.1636$  ч<sup>-1</sup>.

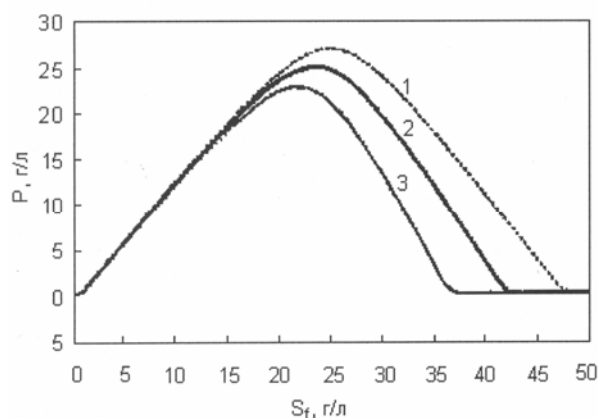


Рис. 3. Влияние максимальной удельной скорости роста  $\mu_m$  на концентрацию продукта  $P$  в реакторе при: 1 –  $\mu_m=0.52$  ч<sup>-1</sup>; 2 –  $\mu_m=0.48$  ч<sup>-1</sup>; 3 –  $\mu_m=0.44$  ч<sup>-1</sup>.

Характер зависимостей концентрации продукта  $P$  на рис. 2 и 3 отражает возможность реализации процесса в условиях достижения максимального значения  $P$ . При этом очевид-

ным является факт существования, по крайней мере, двух режимов ферментации, дающих одинаковое значение  $P$ . Это же относится и к величине продуктивности  $(D \cdot P)$ , так как на приведенных рисунках  $D = \text{const}$ . Численные данные, соответствующие максимальному значению  $P$  и  $(D \cdot P)$  для рис. 2, следующие: при  $D = 0.15 \text{ ч}^{-1}$ :  $P_{\max} = 27.08 \text{ г/л}$ ;  $S = 5.14 \text{ г/л}$ ;  $X = 7.66 \text{ г/л}$ ;  $(D \cdot P) = 4.062 \text{ г/(л} \cdot \text{ч)}$ . Соответствующее значение концентрации  $S_f = 24.3 \text{ г/л}$ . Важно отметить, что для этих данных неизрасходованный субстрат составляет 21% от поступающего.

Данные, полученные для других численных значений  $D$  и  $S_f$  (рис. 3 при  $\mu_m = 0.48$ ), следующие [6]: при  $D = 0.1636 \text{ ч}^{-1}$ :  $P_{\max} = 25.0 \text{ г/л}$ ;  $S = 5.138 \text{ г/л}$ ;  $X = 7.3 \text{ г/л}$ ;  $(D \cdot P) = 4.09 \text{ г/(л} \cdot \text{ч)}$ . Значение концентрации  $S_f = 23.3991 \text{ г/л}$ .

В качестве примера существования двух режимов, реализующих одинаковое значение  $P$  на выходе из реактора, приведем данные для значений  $S_f = 15.55 \text{ г/л}$  и  $S_f = 32.99 \text{ г/л}$  (использованы значения статьи [3]).

Для  $S_f = 15.55 \text{ г/л}$  при  $D = 0.15 \text{ ч}^{-1}$ :  $S = 1.401 \text{ г/л}$ ;  $X = 5.66 \text{ г/л}$ ;  $P = 20.0 \text{ г/л}$ ;  $(D \cdot P) = 3.0 \text{ г/(л} \cdot \text{ч)}$ .

Для  $S_f = 32.99 \text{ г/л}$  при  $D = 0.15 \text{ ч}^{-1}$ :  $S = 18.839 \text{ г/л}$ ;  $X = 5.66 \text{ г/л}$ ;  $P = 20.0 \text{ г/л}$ ;  $(D \cdot P) = 3.0 \text{ г/(л} \cdot \text{ч)}$ .

При этом процент неиспользованного субстрата в первом случае составит 9%, во втором – 57%. Таким образом, режимы, одинаковые по показателям  $P$  и  $X$  различаются количеством использованного субстрата.

Рис. 3 показывает, что значение максимальной концентрации  $P$ , а также положение экстремума, изменяется в зависимости от величины максимальной удельной скорости роста  $\mu_m$ .

Максимальное значение  $P$  (рис. 2 и 3) удобно вычислить аналитически по  $S$ , т.е. записать необходимое условие экстремума (используя формулу (4)):

$$\frac{dP}{dS} = 0. \quad (18)$$

Это условие дает:

$$S^{opt} = (K_m \cdot K_i)^{1/2}. \quad (19)$$

Подставляя это значение в (4), получим:

$$P_{\max} = P_m \cdot \left( 1 - \frac{D}{\mu_m} \cdot \frac{K_m + (K_m \cdot K_i)^{1/2} + \frac{K_m \cdot K_i}{K_i}}{(K_m \cdot K_i)^{1/2}} \right) \quad (20)$$

или

$$P_{\max} = P_m \cdot \left( 1 - \frac{D}{\mu_m} \cdot \left( 2 \cdot \left( \frac{K_m}{K_i} \right)^{1/2} + 1 \right) \right). \quad (21)$$

Максимальное значение для  $X$  будет:

$$X = (S_f - S) \cdot Y_{X/S} = (S_f - (K_m \cdot K_i)^{1/2}) \cdot Y_{X/S}. \quad (22)$$

Таким образом, для любого значения  $S_f$  с учетом ограничения по  $S$  (12) расчет условий максимального значения  $P$  и, следовательно,  $(D \cdot P)$  можно выполнить по формулам (19)–(22).

Для записи условия существования множественности стационарных состояний воспользуемся выводом в работе [3]. Основопологающим соотношением для множественности по  $S_f$  при постоянном значении  $D$  является условие (условие наличия экстремума на кривых рис. 2 и рис. 3):

$$\frac{dP}{dS_f} = 0. \quad (23)$$

Для выполнения этого условия запишем (2) при  $\mu = D$ :

$$D = \mu_m \cdot \left( 1 - \frac{P_m}{P} \right) \cdot \frac{1}{K_m/S + 1 + S/K_i}. \quad (24)$$

Далее, это соотношение перепишем в виде:

$$D = N(P)/R(S), \quad (25)$$

где

$$N(P) = \mu_m \cdot (1 - P_m/P);$$

$$R(S) = (K_m/S) + 1 + (S/K_i).$$

Из уравнений (5) и (6) запишем:

$$P = Y_{X/S} \cdot (\alpha + \beta/D) \cdot (S_f - S). \quad (26)$$

Используя (23), имеем:

$$\frac{dP}{dS_f} = Y_{X/S} \cdot (\alpha + \beta/D) \cdot (1 - dS/dS_f) = 0. \quad (27)$$

Откуда следует:

$$\frac{dS}{dS_f} = 1. \quad (28)$$

Из дифференцирования (25) по  $S_f$  с учетом (23) и (28) получаем условие:

$$\frac{dR(S)}{dS} = 0. \quad (29)$$

Используя (8), условие  $\frac{dS}{dS_f} = 1$  будет [3]:

$$a_4 + \left( \frac{a_4 \cdot (a_3 + a_4 \cdot S_f)}{\left( (a_3 + a_4 \cdot S_f)^2 + 4 \cdot a_1 \cdot K_m \right)^{0.5}} \right) = 2 \cdot a_1, \quad (30)$$

где

$$a_1 = \frac{\mu_m \cdot a_2}{D \cdot P_m} - 1/K_i, \quad (31)$$

$$a_2 = (\alpha + \beta/D) \cdot Y_{X/S}, \quad (32)$$

$$a_3 = 1 - \frac{\mu_m}{D}, \quad (33)$$

$$a_4 = \frac{\mu_m}{D \cdot P_m} \cdot a_2. \quad (34)$$

Таким образом, требование множественности выполняется, если параметры процесса соответствуют условию (30) и условию (29). В последнем соотношении  $R(S) = (K_m/S) + 1 + (S/K_i)$ .

Нетрудно видеть, что условие (30) приводит к соотношению

$$S = (K_m \cdot K_i)^{1/2} \quad (35)$$

и, следовательно, имеем:

$$(K_m \cdot K_i)^{1/2} = \frac{B}{2 \cdot A} \pm \sqrt{\left(\frac{B}{2 \cdot A}\right)^2 + \frac{C}{A}}. \quad (36)$$

Понятно, что соотношения (29) и (30) можно использовать, в основном, в качестве проверочных для совокупности параметров процесса, определяющих существование множественности стационарных состояний.

В заключение отметим следующее. При моделировании процесса микробиологического синтеза для непрерывных условий с нелинейной кинетикой получены зависимости для расчета концентраций компонентов на выходе из биореактора с перемешиванием. Приведены численные результаты, показавшие возможность существования множественности стационарных состояний, что важно для практической реализации процесса. Показана возможность и сформулированы соотношения для обеспечения условий получения максимума продукта.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Agarwal P., Koshy G., Ramirez M. An algorithm for operating a fed-batch fermenter at optimum specific-growth rate // *Biotechnol. Bioeng.* 1989. № 33. P. 115–125.
2. Henson M.A., Seborg D.E. Nonlinear control strategies for continuous fermenters // *Chem. Eng. Sci.* 1992. № 47. P. 821–835.
3. Kumar G.P., Subrahmanya J.V.K., Chidambaram M. Periodic operation of a bioreactor with input multiplicities // *Can. J. Chem. Eng.* 1993. № 71. P. 766–770.
4. McLain R.B., Kurtz M.J., Henson M.A., Doule III Francis J. Habituating control for nonsquare nonlinear processes // *Ind. Eng. Chem. Res.* 1996. № 35. P. 4067–4077.
5. Ruan L., Chen X.D. Comparison of several periodic operations of a continuous fermentation process // *Biotechnol. Prog.* 1996. № 12. P. 286–288.
6. Saha P., Patwardhan S.C., Ramahandra Rao V.S. Maximizing productivity of a continuous fermenter using nonlinear adaptive optimizing control // *Bioprocess Eng.* 1999. № 20. P. 15–21.
7. Henson, M. Exploiting cellular biology to manufacture high-value products // *IEEE Control Systems Magazine*. 2006. August. P. 54–62.
8. Гордеева Ю.Л., Винаров А.Ю., Ивашкин Ю.А. Численное моделирование статики непрерывного ферментативного процесса в аппарате с перемешиванием // *Математические методы в технике и технологиях: сб. трудов XXI Междунар. конф., Саратов, 27–30 мая 2008. – Саратов, 2008. Т. 6. С.109–110.*
9. Гордеева Ю.Л., Винаров А.Ю., Ивашкин Ю.А. Динамические характеристики непрерывного ферментативного процесса в аппарате с перемешиванием // *Математические методы в технике и технологиях: сб. трудов XXI Междунар. конф., Саратов, 27–30 мая 2008. – Саратов, 2008. Т. 6. С.110–112.*